

EP 03 / 00 980

W/502049.



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 102 04 000.1  
**Anmeldetag:** 01. Februar 2002  
**Anmelder/Inhaber:** N.V. Nutricia, Zoetermeer/NL  
**Bezeichnung:** Sialysierte Kohlenhydrate  
**IPC:** C 08 B, A 61 K, A 23 L

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 06. März 2003  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Wehner

## BESCHREIBUNG

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Kohlenhydraten zur Immunmodulation, zur Immunsuppression und zur Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier und die Kohlenhydrate enthaltende Nahrungs-, diätetische und pharmazeutische Mittel.

Die Adhäsion sowohl pathogener Organismen als auch zellschädigender Substanzen an die Oberfläche von Säugerzellen ist der erste Schritt und eine unabdingbare Voraussetzung für eine Infektion bzw. Schädigung der Zelle. Die Interaktion zwischen den Pathogenen und den Zellen kommt durch eine Ligand-Rezeptor-Beziehung zustande. Glycostrukturen spielen bei diesen Beziehungen bzw. Wechselwirkungen eine wichtige Rolle.

Eine Möglichkeit, derartige Ligand-Rezeptor-Beziehungen zu beeinflussen, besteht in der Blockierung der jeweiligen Rezeptoren bzw. Liganden einer der beiden Zelloberflächen oder beider Zelloberflächen.

Verschiedene Kohlenhydratmischungen haben sich in spezifischen Testsystemen als sehr wirksam erwiesen, die Adhäsion beispielsweise von Mikroorganismen an die Zelloberfläche zu vermindern oder ganz zu verhindern, man vergleiche: Kunz, C.; Rudloff, S. *Acta Paediatr.* 1993, 82, 903-912. Andere Substanzen wie etwa die Lewis-Strukturen als Kohlenhydrat-Liganden der Selektine (Adhäsionsproteine auf Endothelien und Lymphocyten), modulieren die Interaktion der Lymphocyten mit dem Endothel beispielsweise im Rahmen von Rolling, Homing und der Invasion bei entzündlichen Prozessen (Albelda, S. M., Smith, C. W., Ward, P. A. *FASEB J.* 1994, 8, 504-512). Einen wichtigen Beitrag bei den genannten Pathogen-Zell-Wechselwirkungen einerseits und bei Zell-Zell-Wechselwirkungen andererseits liefert die Gruppe der Sialinsäuren. Diese Monosaccharide entfalten ihre Wirkung besonders als Bestandteil von Oligosacchariden und Glycokonjugaten wie Glycolipiden und

Glycoproteinen (Traving und Schauer, Structure function and metabolism of sialic acids, Cell. Mol. Life Sci., Vol 54 1998). Sialinsäuren kommen in bis zu 40 verschiedenen Derivatisierungsformen vor und konnten bisher bei Menschen, Tieren sowie einigen Viren, Bakterien und Pilzen  
 5 nachgewiesen werden.

Neben dem physikochemischen Effekt der negativen Ladung der Carboxylgruppe liegt die Hauptfunktion der Sialinsäuren in der spezifischen Beteiligung bei molekularen und zellulären Erkennungsprozessen (Kelm, S. & Schauer, R. (1997) Sialic acids in  
 10 molecular and cellular interactions. Int. Rev. Cytol. 175, 137-240). Hierzu zählen die Stabilisierung von Enzymen und anderer Proteine, Selbst-Nicht-Selbst-Erkennung des Immunsystems, Maskierung von Zellen und Proteinen. Eine besondere Klasse von Sialinsäure-spezifischen Lektinen stellen die Siglecs dar (P.R. Crocker et al.(1998) Siglecs – a family of  
 15 sialic acid-binding lectins. *Glycobiol.*, 8, Glycoforum 2 v-vi.). Diese Moleküle weisen Immunoglobulin-ähnliche Domänen auf, stellen Lektin-ähnliche Rezeptoren dar und binden als wesentliches Merkmal Sialinsäure.

Bei Zell-Zell-Wechselwirkungen ist für deren Wirkungsmechanismus  
 20 generell die Struktur der Liganden oder Rezeptoren essentiell. Die Bindung eines Liganden an einen Rezeptor ist das erste Ereignis, das zu einer Auslösung weiterer Signalkaskaden führen kann. Auch bei Siglecs konnte gezeigt werden, dass sie an Signaltransduktionsmechanismen beteiligt sind. So können z. B. im Siglec-2 (CD22) vorkommende Tyrosine  
 25 phosphoryliert werden, die wiederum über weitere Zwischenschritte zur einer verminderte Aktivierung von B-Zellen führt.

Der Mechanismus der Bindung spezifischer Proteine an Kohlenhydratstrukturen hat auch Bedeutung für die Anheftung von Bakterien an Epitheloberflächen. Da die Anheftung der erste Schritt einer

ersten Infektion darstellt, ist die Inhibierung dieser Bindung ein wichtiges Ziel der Infektionsvermeidung.

Die  $\alpha$ 2-3 spezifisch erkennenden bakteriellen Lektine (Adhäsine) unterliegen dem gleichen Mechanismus, der auch für die Siglecs gilt.

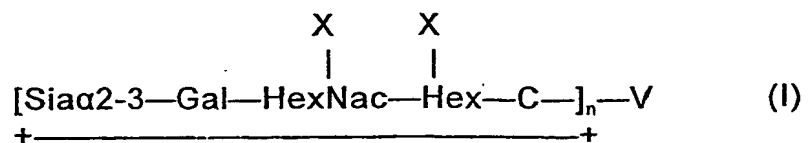
- 5 Darüber hinaus spielt das sogenannte Clustering sowohl von Rezeptor als auch von Liganden eine wichtige Rolle bei der Bindungsintensität. Ein wichtiges Kriterium ist dabei die Polyvalenz der bindungsaktiven Liganden. Je mehr Ligandenstrukturen in einem Molekül vereinigt sind, um so stärker können die Wechselwirkungen zwischen Liganden und
- 10 Rezeptor, bzw. zwischen zwei oder mehreren Zellen ausgeprägt sein. Dies gilt insbesondere für Wechselwirkungen, bei denen eine Vernetzung von Molekülen oder Zellen die Funktion eines biologischen Prozesses moduliert. So ist zu betonen, dass polyvalente Liganden zu einer Vernetzung der Rezeptoren führen und damit eine andere Signalwirkung
- 15 hervorrufen können.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, einen Weg aufzuzeigen, wie mit Hilfe von Kohlenhydraten eine Immunmodulation, Immunsuppression und eine Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier erreicht werden kann.

- 20 Gelöst wird diese Aufgabe durch die Lehre der Ansprüche.

Erfindungsgemäß werden sialysierte Kohlenhydraten der folgenden allgemeinen Formel I mit mindestens einer Kohlenhydrateinheit der folgenden allgemeinen Formel II

25



30

(II)

worin

Sia eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat in  $\alpha 2$ -3-Bindung bedeutet,

Gal eine Galactose-Monosaccharid-Einheit bedeutet,

5 HexNac eine N-acetylierte Galactosamin- oder Glucosamin-Monosaccharid-Einheit (GalNac bzw. GlcNac) bedeutet

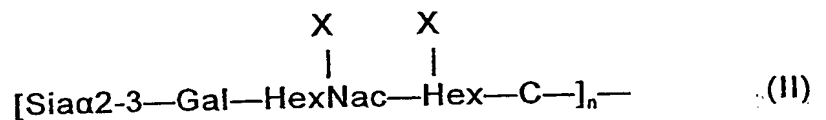
Hex eine Galactose- oder Glucose-Monosaccharid-Einheit (Gal bzw. Glc) bedeutet,

C für HexNac oder Hex steht oder nicht vorhanden ist,

10 n für 1 bis 50 steht,

V für OH, einen Kohlenhydratrest oder für eine Verbindungsstelle an einen Träger T steht, mit der Maßgabe, dass, falls V für OH steht, n für 1 steht, und, falls V für einen Kohlenhydratrest oder für einen Träger T steht, n die Anzahl der an diesen Kohlenhydratrest oder

15 Träger jeweils direkt gebundenen Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II bedeutet



20

X eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat davon bedeutet, wobei an die Sialinsäure oder das Sialinsäurederivat eine zweite Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat oder mehrere Sialinsäuren oder Sialinsäurederivate in  $\alpha 2$ -8-Bindung gebunden sein können,

25

eine Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe oder ein Monosaccharid mit einer Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe bedeutet und nur einer der Reste X vorhanden ist,

zur Immunmodulation, zur Immunsuppression und zur Prävention sowie Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier verwendet.

30 Es wurde nämlich überraschend gefunden, dass nicht die eingangs genannten Oligosaccharidsequenzen, sondern die erfindungsgemäß

eingesetzten Kohlenhydrate sehr wirksame Inhibitoren bzw. Rezeptoranaloga sind. Diese Kohlenhydrate werden nachstehend auch als erfindungsgemäße Kohlenhydrate bezeichnet.

Die erfindungsgemäßen Kohlenhydrate müssen mindestens eine  
 5 Kohlenhydrateinheit der allgemeinen Formel II  
 [Sia $\alpha$ 2-3-Gal-HexNac(X)-Hex(X)-C]- aufweisen; dabei besitzen die Reste Sia, Gal, HexNac, Hex, X und C die im Zusammenhang mit der allgemeinen Formel I angegebenen Bedeutungen.

Diese Kohlenhydrateinheit der allgemeinen Formel II stellt somit einen  
 10 Bestandteil der erfindungsgemäßen Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I dar. Steht der Rest V in der Formel der allgemeinen Formel I für OH, dann sind die Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I aus einer Kohlenhydrateinheit der allgemeinen Formel II und diesem Rest V aufgebaut.

15 Bei den sialisierten Kohlenhydraten sind die bevorzugten Verknüpfungen folgende:  $\alpha$ 1-2,  $\alpha$  1-3,  $\alpha$  1-4,  $\alpha$  1-6,  $\alpha$  2-3,  $\alpha$  2-6,  $\alpha$  2-8,  $\beta$ 1-2,  $\beta$  1-3  $\beta$  1-4 und  $\beta$  1-6. In einem Kohlenhydrat bzw. Glycan können dabei sowohl eine als auch mehrere der genannten Bindungen auftreten. Bevorzugt sind  $\beta$ -verknüpfte Grundstrukturen (I, II) mit  $\alpha$ -glycosidisch geladenen Gruppen,  
 20 sofern X auch für ein Glycan steht.

Der Rest V kann auch für einen Kohlenhydratrest oder für eine Verbindungsstelle an einen Träger T stehen. In letzterem Fall bedeutet V streng genommen keinen Rest, sondern eben diese Verbindungsstelle. Über diese Verbindungsstelle V ist die Kohlenhydrateinheit der  
 25 allgemeinen Formel II an einen Träger gebunden bzw. daran immobilisiert. Die Art des Trägers ist nicht besonders kritisch, so dass eine Vielzahl von Träger Anwendung finden kann. An einen derartigen Träger können bis zu 50 Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II gebunden sein, die jeweils über die Verbindungsstelle V an diesen Träger T gebunden bzw.  
 30 gekoppelt sind. Der im Rahmen der vorliegenden Unterlagen verwendete

Index  $n$  bezeichnet somit die Anzahl der Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II und nicht etwa eine Kette aus  $n$ -Elementen dieser Kohlenhydrateinheiten.

Wenn davon die Rede ist, dass  $n$  für 1 – 50 steht, dann bedeutet dies, dass  $n$  für eine ganze Zahl von 1 – 50 und somit für 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 und 50 stehen kann.

Bei dem Träger  $T$  handelt es sich insbesondere um ein Peptid, ein Protein, ein Polymer oder ein Biopolymer, wobei die Verknüpfung mit dem Peptid oder Protein insbesondere N- oder O-glykosidisch ist. Als Biopolymer kann Polyhydroxybuttersäure Anwendung finden. Ein geeignetes Polymer ist beispielsweise Polyacrylamid.

Der Rest  $V$  kann auch für einen Kohlenhydratrest stehen. Dabei handelt es sich vorzugsweise um einen Monosaccharid-, Oligosaccharid- oder Polysaccharidrest. Als Beispiele kann man nennen: Milchligosaccharide, Speicherkohlenhydrate (insbesondere Stärke) und Gerüstkohlenhydrate wie Pectine, Cellulosen und Galactomannane. Diese Kohlenhydrate können zwar auch als Biopolymere bezeichnet werden. Zur klareren terminologischen Abgrenzung werden sich für die Zwecke der vorliegenden Erfindung jedoch nicht zu den oben genannten Biopolymeren hinzugezählt.

Bei dem den Rest  $V$  darstellenden Kohlenhydratrest kann es sich auch um eine oder mehrere (auch kettenförmige) Kohlenhydratreste handeln, die ebenso zusammengesetzt sind wie die Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II, wobei die Verknüpfungen dieser Kohlenhydratreste andere sind.

Für die Kohlenhydrateinheit der allgemeinen Formel II ist mit entscheidend, dass sie mindestens zwei negative Ladungen aufweist, die

an einem Kern aus mindestens 3 und insbesondere 4 neutralen Monosacchariden (Gal, HexNac, Hex und C) vorhanden sind. Eine dieser negativen Ladungen befindet sich am nicht-reduzierenden Ende des Kernes (kann auch als core bezeichnet werden) als  $\alpha$ 2-3-gebundene Sialinsäure an einer Galactose. Die zweite Ladung liegt subterminal entweder ebenfalls als Sialinsäure vor, die jedoch auch durch andere geladene Gruppen, nämlich Phosphat-, Sulfat- und Carboxylgruppen ersetzt sein kann. Diese Phosphat-, Sulfat- und Carboxylgruppen können sich direkt an den Monosacchariden HexNac und Hex befinden oder an ein anderes Monosaccharid gebunden sein. Mit anderen Worten, dieses andere Monosaccharid stellt dann die Brücke zwischen dieser geladenen Gruppe und dem Monosaccharid HexNac bzw. Hex der Kohlenhydrateinheit der allgemeinen Formel II dar.

Handelt es sich bei dem Rest V um einen Kohlenhydratrest, der von seiner Zusammensetzung der Kohlenhydrateinheit der allgemeinen Formel II entspricht, dann werden vorzugsweise solche Reste V eingesetzt, bei dem zwei negativen Ladungen pro 3 oder 4 neutralen Monosacchariden vorhanden sind.

In den Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II ist nur einer der Reste X vorhanden. Mit anderen Worten, entweder das Monosaccharid HexNac oder das Monosaccharid Hex trägt einen Rest X der oben beschriebenen Art.

Wenn im Rahmen der vorliegenden Unterlagen zur Erläuterung der allgemeinen Formel I und II von Monosacchariden die Rede ist, dann müsste genau genommen der Terminus "Monosaccharid-Einheit" verwendet werden, denn diese Monosaccharide liegen nicht in Alleinstellung vor, sondern sind an andere Monosacchariden oder Gruppen gebunden. Der Einfachheit halber wird jedoch nur der Ausdruck Monosaccharid bzw. der konkrete Name des Monosaccharides (z. B. Galactose, Glucose, Hexosamin etc.) verwendet.



Bei der mit Sia bezeichneten Monosaccharid-Einheit handelt es sich vorzugsweise um Acetylneuraminsäure (NeuAc) oder N-Glycolyl-Neuraminsäure (NeuGc). Bei dem O-Acylderivat der Sialinsäure der Reste Sia und X handelt es sich beispielsweise um ein O-Acetylderivat.

- 5 Bedeutet der Rest X eine Sialinsäure oder ein O-Acylderivat, dann handelt es sich vorzugsweise um NeuAc, NeuGc und deren Derivate, z. B. O-acetylierte Sialinsäure in  $\alpha$ 2-3- oder  $\alpha$ -2-6-Bindung.

Wie bereits oben dargelegt, kann an dem Rest X eine zweite Sialinsäure oder mehrere Sialinsäuren in  $\alpha$ 2-8-Bindung vorhanden sein.

- 10 Während die  $\alpha$ 2-3 gebundene Neu5Ac (Rest Sia $\alpha$ 2-3 in den allgemeinen Formeln I und II) als notwendige Erkennungssequenz unbedingt in den erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydraten vorhanden sein muss, um eine Bindung herzustellen, ist die zweite oder dritte Neu5Ac nur aufgrund der Ladung notwendig, um eine Affinitätssteigerung zu erreichen. Die Art  
15 der Bindung spielt dabei dann auch keine Rolle. Diese zweite Neu5Ac (Rest X) kann auch durch eine andere, eine negative Ladung tragende Gruppe (Phosphat, Sulfat, Carboxyl, auch in Form von Carboxylat) ersetzt sein.

- Für die Immunmodulation, Immunsuppression und für die Behandlungen  
20 von Infektionen bei Mensch und Tier mit Hilfe der erfindungsgemäßen Kohlenhydraten sind somit primär die Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II von Bedeutung. Die Art des Trägers T, an den diese Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II gebunden sein können, ist daher auch von untergeordneter Natur. Der Träger T kann  
25 daher beliebiger Art sein. Vorzugsweise handelt es sich um ein Kohlenhydrat, ein Peptid, ein Protein, ein Polymer oder ein Biopolymer, wobei die Verknüpfung mit dem Peptid oder Protein vorzugsweise N- oder O-glykosidisch ist. Weiterhin bevorzugt handelt es sich bei dem Träger T um lipophile Verbindungen, die eine oder mehrere Kohlenhydrateinheit  
30 oder Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II aufweisen, welche

die Kopfgruppe bzw. die Kopfgruppen davon darstellt bzw. darstellen. Bevorzugte lipophile Verbindungen sind Glycolipide und Ganglioside.

Als Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I werden vorzugsweise Disialyl-Lacto-N-Tetraose (DS-LNT), Disialyl-Lacto-N-neo-Tetraose (DS-LNnT), Glycomakropeptid (GMP) und die Ganglioside  $G_{D1a}$ ,  $G_{T1b}$  und  $G_{T1c}$  zur Anwendung gebracht. Das GMP stammt vorzugsweise aus Tiermilchen, beispielsweise Schaf-, Ziegen-, Büffel-, Kamel- und insbesondere Kuhmilch.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydrate, seien es nun freie Kohlenhydrate (V steht für  $H_2O$ ) oder an einen Kohlenhydratrest oder einen Träger T gebundene Kohlenhydrate, können verschiedenen Nahrungsmitteln, diätetischen Mitteln und pharmazeutischen Mitteln einverleibt sein bzw. werden. Alle diese Mittel können in flüssiger oder fester Form vorliegen. Der hier verwendete Begriff Nahrungsmittel umfasst nicht nur die eigentliche Nahrungsmittel sondern auch Nahrungsergänzungsmittel, Nahrungssupplemente, Getränke sowie Nahrungen einschließlich Säuglings- und Babynahrungen. Der Begriff Babynahrung bzw. Säuglingsnahrung umfasst alle künstlich hergestellten Nahrungen, insbesondere für Humanbabys, jedoch keine Humanmilch. Als "künstlich" werden hier solche Babynahrungen verstanden, die aus Rohstoffen pflanzlichen und tierischen Ursprungs, jedoch nicht humanen Ursprungs, hergestellt werden. Diese Nahrungsmittel können auf beliebige Weise an einen Menschen oder ein Tier verabreicht werden. Dazu zählt auch die Verabreichung als Sondennahrung in den Magen.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydrate können beispielsweise als Beimengungen oder Additive folgenden Produkten zugegeben werden, wobei diese Aufzählung nicht abschließend ist: Milch und Milchprodukte, Säuglings- und Kindernahrungen, Schokoriegel, Joghurtgetränke, Käse-, Wurst- und Fleischwaren, Aufbaunahrung, Sondennahrung und Produkten für Schwangere.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydrate können auch in Form eines pharmazeutischen Mittels alleine oder zusammen mit einem oder mehreren zusätzlichen Wirkstoff(en) verabreicht werden. Sie können beispielsweise als Tablette/Sachet formuliert sein. Für die Formulierung  
5 derartiger Pharmazeutika können übliche Adjuvantien, Träger, Hilfsmittel, Verdünnungsmittel, feucht-haltende Mittel, Verdickungsmittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel usw. Anwendung finden.

Die pharmazeutischen Mittel können auf jede übliche Weise an einen Patienten (d. h. Mensch und Tier) verabreicht werden.  
10 Zweckmäßigerweise handelt es sich jedoch um Mittel, die zur oralen, lingualen, nasalen, intestinalen, bronchialen, vaginalen, topischen (Haut- und Schleimhaut) und per os Verabreichung geeignet sind und entsprechend der Verabreichungsart formuliert sind.

Die mindestens ein erfindungsgemäß eingesetztes Kohlenhydrat  
15 enthaltenden Nahrungsmittel, diätetischen Mittel und pharmazeutischen Mittel können u. a. zur Prävention und Behandlung von Infektionen des Gastrointestinaltraktes, beispielsweise bei Listeriosen, des Blutsystems, der Atemwege, des Urogenitaltraktes sowie des Nasen-Rachen-Raumes und zum Schutz vor Endothelien, Epithelyen und Mucose eingesetzt  
20 werden. Sie können somit auch topisch auf die Haut aufgetragen und auch auf Schleimhäuten Anwendung finden. Zu diesen Schleimhäuten zählen nasale, intestinale, bronchiale und vaginale Schleimhäute. So können die erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydrate beispielsweise einem Mundspülmittel beigefügt sein. Als Zielgruppen für die  
25 erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydrate können allen Altersstufen von Neugeborenen bis zu Senioren genannt werden. Besondere Einsatzgebiete sind der Schutz und die Behandlung von Schwangeren, Kranken, geschwächten und älteren Menschen, bei denen die Vermeidung beispielsweise einer Listeriose von Bedeutung ist.

Die erfindungsgemäßen Kohlenhydrate können somit zur Verminderung oder Verhinderung einer Infektion aufgrund ihrer antiadhäsiven Eigenschaften eingesetzt werden. Andererseits können sie auch zur Beeinflussung der immunologischen Reaktion durch Modulation von Zell-  
 5 Zell-Wechselwirkungen dienen. Dies gilt sowohl für die Modulation von Zell-Zell-Wechselwirkungen, bevorzugt eukaryontischer Zellen untereinander (Beispiel Lymphocyten und Endothelzellen etc), als auch für die Modulation der Adhäsion von Pathogenen (wie Bakterien, Sporen, Viren, Viroide, Prionen, Pilze, einzellige und mehrzellige Parasiten,  
 10 Toxine und Schwermetallkationen) an eukaryontische Zellen, bevorzugt Säugerzellen.

Bei den erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydraten handelt es sich entweder um bekannte Verbindungen, beispielsweise DS-LNT, DS-LNnT GMP und Ganglioside  $G_{D1a}$ ,  $G_{T1b}$  und  $G_{T1c}$ . Sie sind bekannt und/oder  
 15 können nach geeigneten, bekannten Verfahren chemisch, enzymatisch oder in einer Kopplung beider Technologien hergestellt werden.

Bei der erfindungsgemäß eingesetzten Disialyl-Lacto-N-Tetraose (DSLNT) und Disialyl-Lacto-N-neo-Tetraose (DSLNNt) handelt es sich um Verbindungen der allgemeinen Formel I, in denen HexNac = GlcNac, Hex  
 20 = Galactose und C = Glucose steht. Zudem sind zwei Sialinsäuren vorhanden ( $Sia\alpha 2-3\text{NeuAc}$ ,  $X = \alpha 2-6\text{NeuAc}$ ). Auch die Derivate davon können Anwendung finden, bei denen es sich vorzugsweise um solche handelt, bei denen die nicht-terminale Sialinsäure durch Glycolylneuraminsäure, eine Sulfatgruppe, eine Phosphatgruppe oder  
 25 eine Carboxyl- bzw. Carboxylatgruppe ersetzt wurde. Auch kann eine weitere Sialinsäure angeknüpft werden. Die Typ 1 Lactosamineinheit kann ersetzt sein durch eine Gal ( $\beta 1-3$ ) GalNAc-Einheit.

Bei den ferner erfindungsgemäß eingesetzten Gangliosiden  $G_{D1a}$  und  $G_{T1b}$  ist die Monosaccharidsequenz dem DS-LNT sehr ähnlich. Die Bindung der

zweiten bzw. dritten Sialinsäure erfolgt jedoch an der Galactose, die an der Glucose (Verbindung zum Ceramid) lokalisiert ist.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I werden zweckmäßigerweise in einer solchen Menge verabreicht, dass einem Patienten vorzugsweise mindestens 1 mg Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I und insbesondere eine Kohlenhydrateinheit der allgemeinen Formel II pro kg Körpergewicht und Tag zugeführt wird.

Nachstehend sind beispielhafte Diätetika und Pharmazeutika aufgeführt, welche mindestens ein erfindungsgemäßes Kohlenhydrat enthalten. Es handelt sich dabei um folgende erfindungsgemäße Kohlenhydrate: Disyalyl-Lacto-N-Tetraose (DSLNT) und die Derivate davon (siehe oben), DSLNnT und die Derivate davon;  $G_{D1a}$ ,  $G_{T1b}$  und  $G_{T1c}$ . Der Einfachheit halber werden diese Kohlenhydrate in den Beispielen nur mit dem Begriff "erfindungsgemäßes Kohlenhydrat" bezeichnet. Dieser Begriff steht stellvertretend für jedes oben aufgeführte, erfindungsgemäße Kohlenhydrat und deren Mischungen.

#### Beispiel 1:

Zur Herstellung von Sachets werden jeweils 100 mg oder auch nur 5 mg erfindungsgemäßes Kohlenhydrat mit 990 mg Maltodextrin trocken gemischt und dann in Sachets verpackt. Diese Sachets werden dreimal täglich zu den Mahlzeiten verabreicht.

#### Beispiel 2:

Eine bekannte Heilnahrung (d.h. Milupa® HN 25, bilanzierte Diät) in Form eines Perlates mit 18,8 g Eiweiß, 8,6 g Fett, 62,8 g Kohlenhydrate, 3,3 g Mineralstoffen und Vitaminen wird bei der per se bekannten Herstellung mit einem erfindungsgemäßen Kohlenhydrat in einer solchen Menge versetzt, dass 50 mg des erfindungsgemäßen Kohlenhydrates in 100 g des fertigen Perlats enthalten sind.

Für die Herstellung einer flüssigen Heilnahrung werden 100 ml der bekannten Heilnahrung *Milupa HN 25 flüssig* (2,3 g Eiweiß, 1,6 g Fett, 8,5 g Kohlenhydrate, 37 g Mineralstoffe, Vitamine) mit 7 mg eines erfindungsgemäßen Kohlenhydrates versetzt.

5 Beispiel 3:

Produkt für Schwangere

Eine Brausetablette (Endgewicht 4,15 g) (*Neovin®* von Milupa) wird unter Beimengung von 200 bis 500 mg eines erfindungsgemäßen Kohlenhydrates auf per se bekannte Weise hergestellt. Täglich wird eine  
10 Tablette in 150 ml Wasser gelöst und getrunken.

Beispiel 4:

Produkt für Ältere und geschwächte Personen

Eine bilanzierte pulverförmige Aufbaunahrung (*Dilsana®* von Milupa) mit 22,5 g Eiweiß, 7,7 g Fett, 60,8 g Kohlenhydrate, 5,4 g Mineralstoffen und  
15 Vitaminen wird auf per se bekannte Weise unter Einarbeitung von 100 mg bis 1000 mg eines erfindungsgemäßen Kohlenhydrates pro 100 g Pulver hergestellt. Täglich werden bis zu 3 x 50 g der Nahrung in 150 ml Wasser gelöst und verabreicht.

Beispiel 5

20 Tee

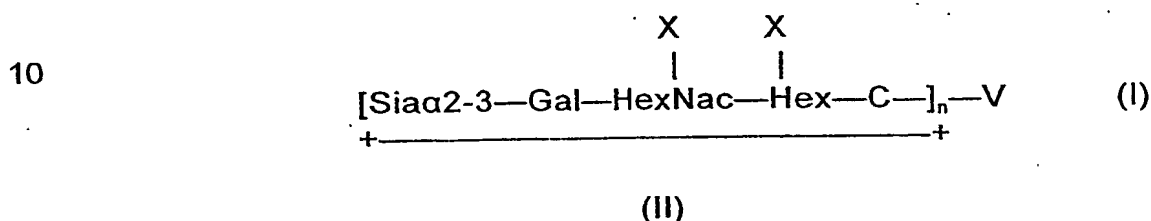
100 g eines auf übliche Weise hergestellten Instant-Tee-Pulvers werden mit 2 g eines erfindungsgemäßen Kohlenhydrates vermengt. Je 3,8 g Teepulver werden in 100 ml heißem Wasser gelöst und dreimal täglich verabreicht.

25 Beispiel 6

Eine im Eiweiß adaptierte Säuglingsmilchnahrung (*Aptamil*® von Milupa) mit 11,8 g Eiweiß, 56,9 g Kohlenhydrate 24,9 g Fett, 2,5 g Mineralstoffen, Vitaminen und 45 mg Taurin wird auf übliche Weise in Form eines Perlates hergestellt, das mit 100 mg bis 1000 mg eines  
5 erfindungsgemäßen Kohlenhydrates pro 100 g Säuglingsmilchnahrung vermengt wird.

## PATENTANSPRÜCHE

1. Verwendung von sialysierten Kohlenhydraten der folgenden  
 5 allgemeinen Formel I mit mindestens einer Kohlenhydrateinheit der  
 folgenden allgemeinen Formel II



15 worin

Sia eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat in  $\alpha 2-3$ -Bindung bedeutet,

Gal eine Galactose-Monosaccharid-Einheit bedeutet,

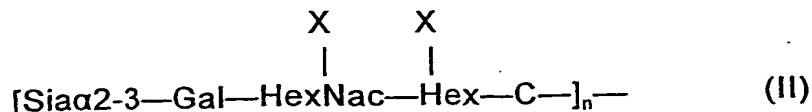
20 HexNac eine N-acetylierte Galactosamin- oder Glucosamin-Monosaccharid-Einheit (GalNac bzw. GlcNac) bedeutet

Hex eine Galactose- oder Glucose-Monosaccharid-Einheit (Gal bzw. Glc) bedeutet,

C für HexNac oder Hex steht oder nicht vorhanden ist,

n für 1 bis 50 steht,

25 V für OH, einen Kohlenhydratrest oder für eine Verbindungsstelle an einen Träger T steht, mit der Maßgabe, dass, falls V für OH steht, n für 1 steht, und, falls V für einen Kohlenhydratrest oder für einen Träger T steht, n die Anzahl der an diesen Kohlenhydratrest oder Träger jeweils direkt gebundenen Kohlenhydrateinheiten der  
 30 allgemeinen Formel II bedeutet





X eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat davon bedeutet, wobei an die Sialinsäure oder das Sialinsäurederivat eine zweite Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat oder mehrere Sialinsäuren oder Sialinsäurederivate in  $\alpha$ 2-8-Bindung gebunden sein können, eine Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe oder ein Monosaccharid mit einer Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe bedeutet und nur einer der Reste X vorhanden ist, zur Immunmodulation, zur Immunsuppression und zur Prävention sowie Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier .

2. Verwendung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

dass eines, zwei, drei, vier oder alle der folgenden Merkmale i bis iv) erfüllt sind:

- 15 i) Sia steht für Acetylneuraminsäure (NeuAc) oder N-Glycolyl-Neuraminsäure (NeuGc),
- ii) bei dem Sialinsäurederivat oder den Sialinsäurederivaten der Reste Sia und X handelt es sich um ein O-Acyl-Derivat und insbesondere ein O-Acetyl-Derivat,
- 20 iii) bei dem Träger T handelt es sich ein Peptid, ein Protein, ein Polymer oder ein Biopolymer, wobei die Verknüpfung mit dem Peptid oder Protein insbesondere N- oder O-glykosidisch ist, und
- iv) bei dem den Rest V darstellenden Kohlenhydratrest handelt es sich um einen Monosaccharidrest, einen Oligosaccharidrest oder einen Polysaccharidrest.

3. Verwendung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

- 30 dass die Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I ausgewählt sind unter Disialyl-Lacto-N-Tetraose (DS-LNT, V = OH, HexNac = GlcNac, Hex = Galactose (Gal), C = Glucose, Sia =  $\alpha$ 2-3 NeuAc, X =  $\alpha$ 2-6 NeuAc an

HexNac), Disialyl-Lacto-N-neo-Tetraose (DS-LNnT), Glycomakropeptid (GMP), Gangliosid  $G_{D1a}$ , Gangliosid  $G_{T1b}$  und Gangliosid  $G_{T1c}$ .

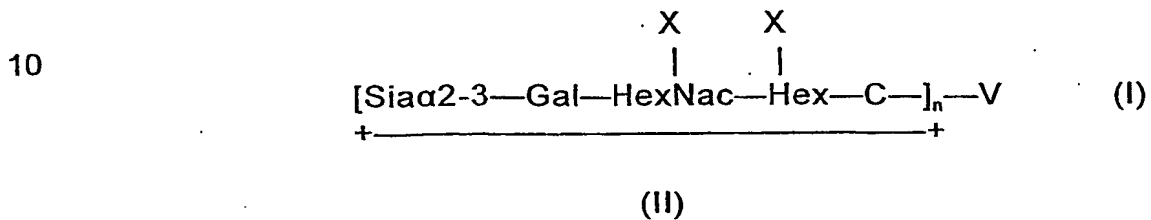
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
dadurch gekennzeichnet,
- 5 dass T für lipophile Verbindungen steht und die Kohlenhydrateinheit oder Kohlenhydrateinheiten der allgemeinen Formel II die Kopfgruppe(n) davon darstellt bzw. darstellen.
5. Verwendung nach Anspruch 4,  
dadurch gekennzeichnet,
- 10 dass es sich bei den lipophilen Verbindungen um Glycolipide und insbesondere um Ganglioside handelt.
6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das Kohlenhydrat oder die Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I
- 15 in einer Menge von mindestens 1 mg pro kg Körpergewicht eingesetzt werden.
7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
zur Prävention und Behandlung von Infektionen des  
Gastrointestinaltraktes, des Blutsystems, der Atemwege, des
- 20 Urogenitaltraktes sowie des Nasen-Rachenraumes.
8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das Kohlenhydrat oder die Kohlenhydrate der allgemeinen Formel I
- 25 einem flüssigen oder festen Nahrungsmittel (mit Ausnahme von Humanmilch), diätetischen Mittel oder pharmazeutischen Mittel zur Verabreichung an einen Menschen oder ein Tier einverleibt sind oder zur Herstellung eines derartigen Mittels zur Immunmodulation, zur Immunsuppression und zur Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier dienen.

9. Verwendung nach Anspruch 9,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass das pharmazeutische Mittel zur oralen, lingualen, nasalen,  
bronchialen, vaginalen, topischen (Haut und Schleimhaut) oder per os  
5 Verabreichung, zur Verabreichung mittels einer Sonde in den Magen  
eines Menschen oder eines Tieres oder zur Verabreichung als Infusion  
dient.
10. Nahrungs-, diätetisches oder pharmazeutisches Mittel enthaltend  
mindestens ein in einem der Ansprüche 1 bis 5 beschriebenes  
10 Kohlenhydrat der allgemeinen Formel I.
11. Mittel nach Anspruch 10,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
es ein weiteres Kohlenhydrat oder mehrere weitere Kohlenhydrate, die  
sich von den Kohlenhydraten im Anspruch 1 unterscheiden, einen  
15 weiteren Wirkstoff oder mehrere weitere Wirkstoffe, und/oder einen  
weiteren Inhaltsstoff, der für das entsprechende Mittel bekannt und  
geeignet ist, oder mehrere derartige Inhaltsstoffe enthalten kann, wobei  
im Falle eines pharmazeutischen Mittels zusätzlich ein üblicher Hilfsstoff  
oder mehrere übliche Hilfsstoffe, wozu Verdünnungsmittel, feucht-  
20 haltende Mitteln, Verdickungsmittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel  
und Träger zählen, vorhanden sein kann und wobei im Falle eines  
Nahrungs- oder diätetische Mittel mindestens ein weiterer  
Nahrungsmittelbestandteil enthalten sein kann.
12. Verfahren zur Immunmodulation, zur Immunsuppression und zur  
25 Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier ,  
dadurch gekennzeichnet,  
dass mindestens ein Kohlenhydrat der allgemeinen Formel I nach einem  
der Ansprüche 1 bis 5 oder ein Mittel nach Anspruch 10 oder 11 an  
einen Menschen oder ein Tier verabreicht wird, jedoch nicht in Form von  
30 Humanmilch, insbesondere in einer solchen Menge, dass mindestens 1

mg Kohlenhydrat der allgemeinen Formel I pro kg Körpergewicht und Tag dem Mensch oder Tier zugeführt wird.

13. Sialysierte Kohlenhydraten der folgenden allgemeinen Formel I mit

5 mindestens einer Kohlenhydrateinheit der folgenden allgemeinen Formel II



15 worin

Sia eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat in  $\alpha 2-3$ -Bindung bedeutet,

Gal eine Galactose-Monosaccharid-Einheit bedeutet,

20 HexNac eine N-acetylierte Galactosamin- oder Glucosamin-Monosaccharid-Einheit (GalNac bzw. GlcNac) bedeutet.

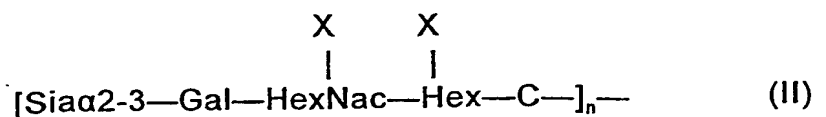
Hex eine Galactose- oder Glucose-Monosaccharid-Einheit (Gal bzw. Glc) bedeutet,

C für HexNac oder Hex steht oder nicht vorhanden ist,

n für 1 bis 50 steht,

25 V für OH, einen Kohlenhydratrest oder für eine Verbindungsstelle an einen Träger T steht, mit der Maßgabe, dass, falls V für OH steht, n für 1 steht, und, falls V für einen Kohlenhydratrest oder für einen Träger T steht, n die Anzahl der an diesen Kohlenhydratrest oder Träger jeweils direkt gebundenen Kohlenhydrateinheiten der

30 allgemeinen Formel II bedeutet



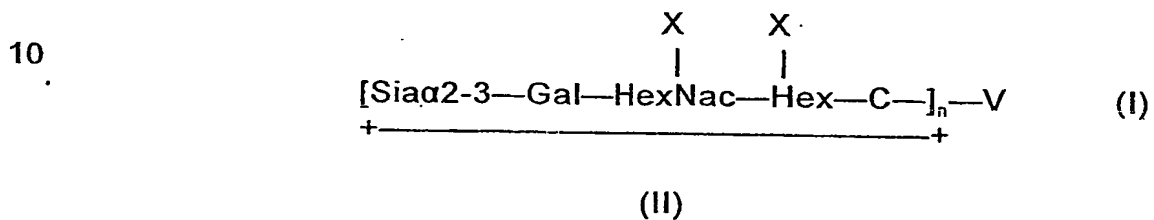
35

X eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat davon bedeutet,

- 5 wobei an die Sialinsäure oder das Sialinsäurederivat eine zweite Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat oder mehrere Sialinsäuren oder Sialinsäurederivate in  $\alpha$ 2-8-Bindung gebunden sein können, eine Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe oder ein Monosaccharid mit einer Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe bedeutet und nur einer der Reste X vorhanden ist, zur Immunmodulation, zur Immunsuppression und zur Prävention sowie Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier .

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Beschrieben wird die Verwendung von sialysierten Kohlenhydraten der  
 5 folgenden allgemeinen Formel I mit mindestens einer  
 Kohlenhydrateinheit der folgenden allgemeinen Formel II



15 worin

Sia eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat in  $\alpha 2-3$ -Bindung bedeutet,

Gal eine Galactose-Monosaccharid-Einheit bedeutet,

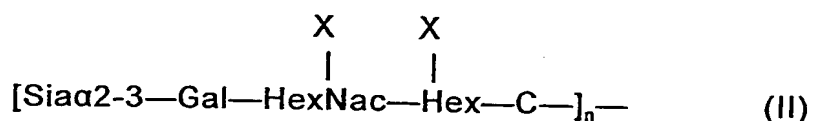
20 HexNac eine N-acetylierte Galactosamin- oder Glucosamin-Monosaccharid-Einheit (GalNac bzw. GlcNac) bedeutet

Hex eine Galactose- oder Glucose-Monosaccharid-Einheit (Gal bzw. Glc) bedeutet,

C für HexNac oder Hex steht oder nicht vorhanden ist,

n für 1 bis 50 steht,

25 V für OH, einen Kohlenhydratrest oder für eine Verbindungsstelle an einen Träger T steht, mit der Maßgabe, dass, falls V für OH steht, n für 1 steht, und, falls V für einen Kohlenhydratrest oder für einen Träger T steht, n die Anzahl der an diesen Kohlenhydratrest oder Träger jeweils direkt gebundenen Kohlenhydrateinheiten der  
 30 allgemeinen Formel II bedeutet



5 X eine Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat davon bedeutet,  
wobei an die Sialinsäure oder das Sialinsäurederivat eine zweite  
Sialinsäure oder ein Sialinsäurederivat oder mehrere Sialinsäuren  
oder Sialinsäurederivate in  $\alpha$ 2-8-Bindung gebunden sein können,  
eine Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe oder ein  
10 Monosaccharid mit einer Phosphat-, Sulfat-, oder Carboxyl-Gruppe  
bedeutet und nur einer der Reste X vorhanden ist,  
zur Immunmodulation, zur Immunsuppression und zur Prävention  
sowie Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier .

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP03/000980

International filing date: 31 January 2003 (31.01.2003)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE  
Number: 102 04 000.1  
Filing date: 01 February 2002 (01.02.2002)

Date of receipt at the International Bureau: 11 February 2005 (11.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse